

Studien
zum Nucleinsäuregehalt und DPN-Stoffwechsel
von Tumoren nach Behandlung mit
Carcinostatica

Kurzfassung der
Inauguraldissertation
zur Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von
Meino Mielsch

aus
Baden-Baden

Freiburg im Breisgau, im Juli 1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545301_0033



Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. HELMUT HOLZER)

DPN-Gehalt, Nucleinsäure-Gehalt und Zellstruktur von Ascites-Tumorzellen nach Einwirkung alkylierender Cytostatica *

Von

U. DOLD, M. MIELSCH und H. HOLZER**

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 5. Mai 1962)

Alkylierende Cytostatica hemmen die Biosynthese des DPN*** in Tumoren (KRÖGER u. HOLZER 1960, KRÖGER et al. 1960). Viele Beobachtungen sprechen dafür, daß durch die Hemmung der Biosynthese des DPN die heilende Wirkung der alkylierenden Cytostatica auf tierische Tumoren zustande kommt (Zusammenfassung s. HOLZER 1961). Da manche Autoren eine Wirkung der alkylierenden Cytostatica auf Nucleinsäuren bzw. auf den Nucleinsäurestoffwechsel für die Ursache der heilenden Wirkung halten (s. z. B. LAWLEY und BROOKES 1960), war es wichtig, zu prüfen, in welcher zeitlichen Reihenfolge Veränderungen in der Nucleinsäurezusammensetzung einerseits und im DPN-Gehalt andererseits nach Behandlung von Tumorzellen mit alkylierenden Cytostatica eintreten. Aus früheren Versuchen (GRUNDMANN et al. 1960) schlossen wir, daß das Cytostaticum Endoxan Veränderungen des DNS/RNS-Quotienten im Jensen-Sarkom wesentlich früher bewirkt als den Abfall des DPN-Gehaltes. Wir folgerten daraus, daß die Wirkung auf die Biosynthese des DPN beim Endoxan nicht der primäre Angriffspunkt im Zellstoffwechsel sein könne.

Da sich Endoxan in mancher Hinsicht anders verhält als die bisher von uns eingehend studierten alkylierenden Cytostatica der Äthylenimin-Reihe und der N-Lost-Reihe, hielten wir eine Ausdehnung der vorgenannten Versuche auf die Äthylenimin-Verbindung E 39 solubile und die N-Oxyd-Lost-Verbindung Mitomen für zweckmäßig. Um den DPN-Gehalt und den Nucleinsäure-Gehalt in denselben Präparationen zu erfassen, bestimmten wir in Vorversuchen mit Jensen-Sarkom RNS und DNS nicht cytophotometrisch in histologischen Präparaten wie in der

* Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Bundesministerium für Atomkernenergie, sowie dem Badischen Landesverband zur Bekämpfung des Krebses und der Müller-Fahnenberg-Stiftung (Universität Freiburg i. Br.) für Beihilfen. U. DOLD dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft, M. MIELSCH der Fritz-Thyssen-Stiftung für ein Stipendium.

** Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit ist der Dissertation von MEINO MIELSCH an der Medizinischen Fakultät der Universität Freiburg i. Br. entnommen.

*** Abkürzungen: DPN = Diphosphopyridinnucleotid; DNS = Desoxyribonucleinsäure; RNS = Ribonucleinsäure; E 39 solubile = 2,5-bis-methoxy-äthoxy-3,6-bis-äthylenimino-benzochinon-(1,4); Endoxan = N,N-bis-(β -chloräthyl)-N',O-propylenphosphorsäure-esterdiamid; Mitomen = Methyl-bis-(β -chloräthyl)-amin-N-oxyd-hydrochlorid; Trenimon = 2,3,5-tris-äthylenimino-benzochinon-(1,4).

Wir danken der Firma Bayer für die Überlassung ihrer Präparate E 39 solubile und Trenimon; für Mitomen und Endoxan danken wir der Firma Asta-Brackwede.

früheren Arbeit mit Endoxan (GRUNDMANN et al. 1960), sondern, ebenso wie das DPN, in Extrakten aus Gramm-Portionen des Tumors. Es zeigte sich, daß der RNS- und DNS-Gehalt von Probe zu Probe, auch desselben Tumors, sehr stark schwankte, ohne daß eine über diese Schwankungen hinausgehende deutliche Veränderung nach Einwirkung von Cytostatica zu sehen war. Die starken Schwankungen sind sehr wahrscheinlich auf wechselnde Größe von Nekrosezonen und wechselnde Mengen eingewanderter Fremdzellen zurückzuführen. Wir wählten daher für die geplanten Versuche ein einheitlicheres Zellmaterial, nämlich den Ehrlich-Ascitestumor.

In der vorliegenden Arbeit zeigen wir, daß die alkylierenden Cytostatica E 39 soluble und Mitomen in Ehrlich-Ascites-Tumorzellen bei Bedingungen, unter denen der DPN-Gehalt stark abfällt, weder in vitro (suspendiert in eigenem Ascitessserum) noch in vivo (suspendiert im Ascitessserum im Bauchraum lebender Mäuse) eine Veränderung des DNS/RNS-Quotienten bewirken. Wir ziehen daher unsere für Endoxan geäußerte Ansicht zurück, daß Veränderungen im DNS/RNS-Quotienten vor dem Abfall des DPN-Gehaltes auftreten, da diese Befunde mit völlig verschiedenartigen Bestimmungsmethoden für die beiden zu vergleichenden Größen erhoben wurden. DPN hatten wir seinerzeit in Extrakten aus Gramm-Portionen des Tumors analysiert, während der DNS/RNS-Quotient in einzelnen Zellen mikroskopisch ausgewählter Partien des Tumors cytophotometrisch analysiert worden war.

Methoden

1. *Zellmaterial.* Ehrlichsche Mäuse-Asciteszellen wurden am 5.—7. Tag nach intra-peritonealer Beimpfung des Mäusestammes Prag geerntet. Die Zellen wurden im eigenen Serum belassen. Falls ein Gerinnen eintrat, wurde der Ascites verworfen. Im allgemeinen konnten Parallelansätze mit der Ascitesflüssigkeit einer einzigen Maus durchgeführt werden.

2. *Inkubationsansätze.* 2,0 ml Ascitessuspension wurden mit 0,5 ml 4%iger Glucoselösung und 0,5 ml Cytostaticum in Krebs-Ringer-Phosphat-Lösung in 20 ml Rundkölbchen an der Warburg-Apparatur bei 38° C (Gasphase Luft; p_H 7,4) geschüttelt.

3. *Aufarbeitung.* Je 0,4 ml der Suspension wurden abzentrifugiert, das überstehende Serum sorgfältig mit einer Capillare an der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und die Zellen mit 2,0 ml eiskalter 5%iger $HClO_4$ homogenisiert und in der Kälte abzentrifugiert. Der Überstand wurde mit K_2CO_3 -haltigem m/10 Trishydroxymethylaminomethanpuffer neutralisiert und der Überstand nach Abzentrifugieren des $KClO_4$ zur DPN-Bestimmung im optischen Test (vgl. HOLZER et al. 1958) verwendet. Das Sediment des $HClO_4$ -Extraktes wurde noch zweimal mit je 2,5 ml eiskalter 5%iger $HClO_4$ und dann einmal mit einem Gemisch von einem Teil Äther und drei Teilen Äthanol auf der Zentrifuge gewaschen. Dann wurde das Sediment mit 3,0 ml 5%iger $HClO_4$ homogenisiert und in Anlehnung an SCHNEIDER (1945) im Wasserbad bei 70° C 60 min lang hydrolysiert. Nach Zentrifugieren bestimmten wir im Überstand RNS und DNS; im Sediment wurde Protein mit der Biuretmethode, wie bei BEISENHERZ et al. (1953) angegeben, bestimmt.

Die *RNS-Bestimmung* erfolgte nach BARRENSCHEEN und PEHAM (1942). Gemessen wurde im Photometer Eppendorf bei $\lambda = 691 m\mu$, $d = 2,0$ cm. Da auch die DNS mitreagiert und dabei, auf Phosphatgehalt bezogen, 20% der Extinktion von RNS liefert, mußte dieser Anteil nach der DNS-Bestimmung abgezogen werden.

Die *DNS-Bestimmung* erfolgte nach BURTON (1956). RNS reagiert nicht mit.

Standard-Substanzen. Die DNS- und RNS-Werte wurden bezogen auf DNS und RNS, die nach SCHNEIDER und POTTER (1958) aus Ehrlichschen Mäuse-Ascites-Tumorzellen hergestellt wurden. DNS und RNS wurde durch alkalische Hydrolyse (s. SCHMIDT und THANNHAUSER 1945) getrennt. DNS wurde dann noch vierfach mit HCl umgefällt. Die Menge der eingesetzten Eichsubstanz wurde aus dem Phosphatgehalt berechnet. Dieser wurde mit 9,0% für RNS und mit 9,2% für DNS zugrunde gelegt.

Cytologie. Die Zellen wurden auf Objektträgern ausgestrichen und vor Antrocknen in einer Äthanol-Äther-Mischung 1:1 6 Std fixiert und mit Hämalaun-Eosin, bzw. 12 Std mit Gallocyenin-Chromalaun gefärbt, entwässert und in Caedax eingebettet.

Ergebnisse

Unter den von uns gewählten Bedingungen fällt der DPN-Gehalt von Ascites-Tumorzellen nach $\frac{1}{2}$ —1stündiger Inkubation mit den Äthylenimin-Verbindungen E 39 soluble (Abb. 1) und Trenimon (Abb. 2) bzw. der N-Oxyd-Lost-Verbindung

Mitomen (Abb. 3) auf einen geringen Bruchteil des Anfangswertes ab. Die Quotienten RNS/DNS und Protein/DNS verändern sich in diesem Zeitraum

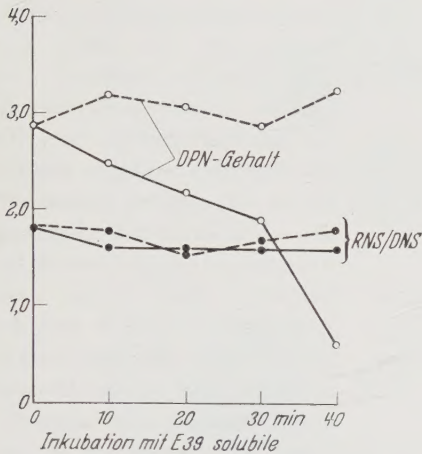


Abb. 1

Abb. 1. DPN-Gehalt von Asciteszellen in $\mu\text{Mol/mm}^3 \text{ Zellen} \times 10^4$ und RNS/DNS-Quotienten. Ausgezogen die Werte nach Inkubation mit $150 \mu\text{g/ml}$ Bayer E 39 soluble. Die jeweiligen Kontrollwerte ohne Cytostaticum sind durch gestrichelte Linien verbunden. Mittelwert der RNS/DNS-Quotienten $1,64 \pm 0,08$ mit Cytostaticum, $1,77 \pm 0,17$ bei den Kontrollen. Die Ascitessuspension enthielt 15 % Fremdzellen

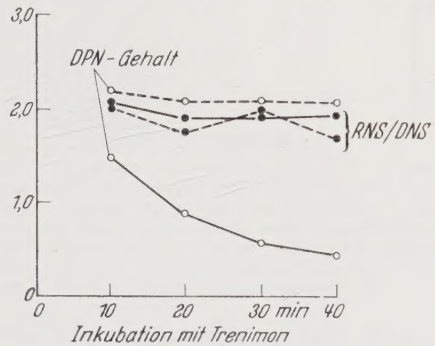


Abb. 2

Abb. 2. DPN-Gehalt von Asciteszellen in $\mu\text{Mol/mm}^3 \text{ Zellen} \times 10^4$ und RNS/DNS-Quotienten. Ausgezogen die Werte nach Inkubation mit $15 \mu\text{g/ml}$ Trenimon. Die jeweiligen Kontrollwerte ohne Cytostaticum sind durch gestrichelte Linien verbunden. Mittelwert der RNS/DNS-Quotienten $1,99 \pm 0,08$ mit Cytostaticum, $1,89 \pm 0,20$ bei den Kontrollen. Die Ascitessuspension enthielt 10 % Fremdzellen

nicht. Man sieht, daß keine signifikanten Unterschiede der behandelten Proben zu den Kontrollen vorhanden sind. Die RNS/DNS-Quotienten sind bei den Ansätzen um so kleiner, je größer der Gehalt an Fremdzellen (Lymphocyten, Leukocyten und Gewebswanderzellen) ist. Dies steht im Einklang mit der bekannten Tatsache, daß Leukocyten und Gewebszellen im Vergleich zu Ascites-Tumorzellen einen kleineren RNS/DNS-Quotienten aufweisen (s. HUDACK u. BAKER 1961). Der Gehalt an Fremdzellen kann demnach die RNS/DNS-Quotienten wesentlich beeinflussen, und man versteht, weshalb wir bei der Analyse von Gramm-Portionen solider Tumoren stark streuende RNS/DNS-Quotienten erhielten.

Aus der Tabelle sieht man, daß die mit Cytostatica behandelten Zellen nach der Reimplantation in die Bauchhöhle von Mäusen nicht mehr zur Ausbildung eines Tumors und damit zum Tod der Mäuse führen. Sie sind demnach nicht mehr vermehrungsfähig, obwohl der RNS/DNS-Quotient sich nicht verändert hat. Dies bestärkt unsere Ansicht, daß es die Hemmung der Biosynthese des DPN, und damit der absinkende DPN-Gehalt ist, der den cytostatischen Effekt

bewirkt. Damit im Einklang stehen Versuche von MIELSCH et al. (1962), wonach die Vermehrungsfähigkeit von Ascites-Tumorzellen einerseits und der DPN-

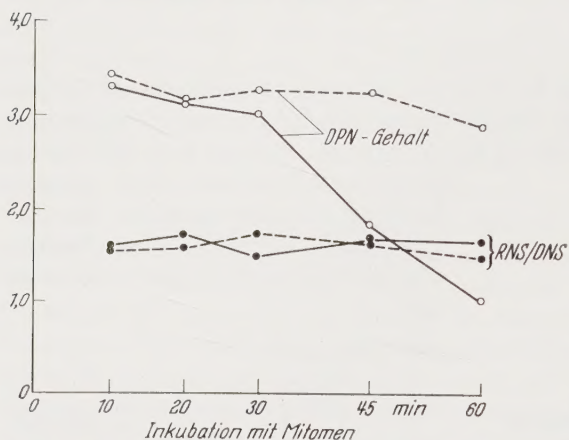


Abb. 3. DPN-Gehalt von Asciteszellen in $\mu\text{Mol/mm}^3$ Zellen $\times 10^4$ und RNS/DNS-Quotienten. Ausgezogen die Werte nach Inkubation mit 330 $\mu\text{g/ml}$ Mitomen. Die jeweiligen Kontrollwerte ohne Cytostaticum sind durch gestrichelte Linien verbunden. Mittelwert der RNS/DNS-Quotienten $1,60 \pm 0,02$ mit Cytostaticum, $1,60 \pm 0,13$ bei den Kontrollen. Die Ascitessuspension enthielt 19 % Fremdzellen

Genhalt andererseits bei Variation der Konzentration von alkylierenden Cytostatica in demselben Konzentrationsbereich abfallen.

Um den Einfluß der Cytostatica unter optimalen Bedingungen für den RNS- und DNS-Umsatz studieren zu können, wurden Versuche mit Ascites-Tumorzellen in vivo durchgeführt. Dazu wurden Mäuse mit Ascites-Tumor mit der Äthylennimin-Verbindung Trenimon intraperitoneal behandelt. Man sieht aus Abb. 4, daß nach 6 Std der DPN-Gehalt der Ascites-Tumorzellen auf wenige Prozent des Ausgangswertes abgesunken ist. Der RNS/DNS-Quotient ändert sich in dieser Zeit ebenso wie in den darauffolgenden 18 Std nicht wesentlich. Statt einer Erhöhung des Quotienten,

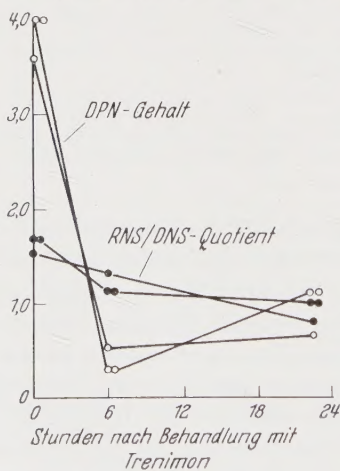


Abb. 4

Abb. 4. DPN-Gehalt von Asciteszellen in $\mu\text{Mol/mm}^3$ Zellen $\times 10^4$ und RNS/DNS-Quotienten nach intraperitonealer Behandlung mit 4 μg Trenimon pro Gramm Maus. Aufgetragen sind die Werte jeweils zweier Mäuse; Ringe = erstes Tier, Doppelringe = zweites Tier

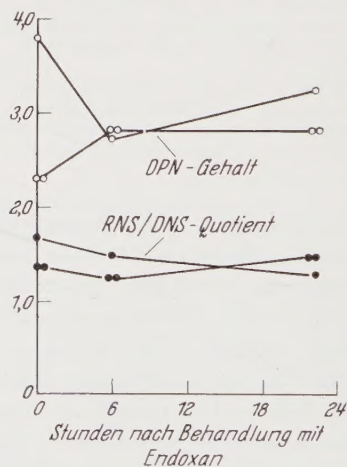


Abb. 5

Abb. 5. DPN-Gehalt von Asciteszellen in $\mu\text{Mol/mm}^3$ Zellen $\times 10^4$ und RNS/DNS-Quotienten nach intraperitonealer Behandlung mit 125 μg Endoxan pro Gramm Maus. Aufgetragen sind die Werte jeweils zweier Mäuse; Ringe = erstes Tier, Doppelringe = zweites Tier

wie wir sie früher auf Grund cytophotometrischer Versuche am Jensen-Sarkom beschrieben hatten, sieht man eher eine geringfügige Erniedrigung. Endoxan bewirkt im Einklang mit früheren Versuchen, bei denen Asciteszellen in vitro in

Krebs-Ringer-Lösung suspendiert waren, auch in vivo keine Senkung des DPN-Gehaltes (Abb. 5). Auch der RNS/DNS-Quotient bleibt unverändert.

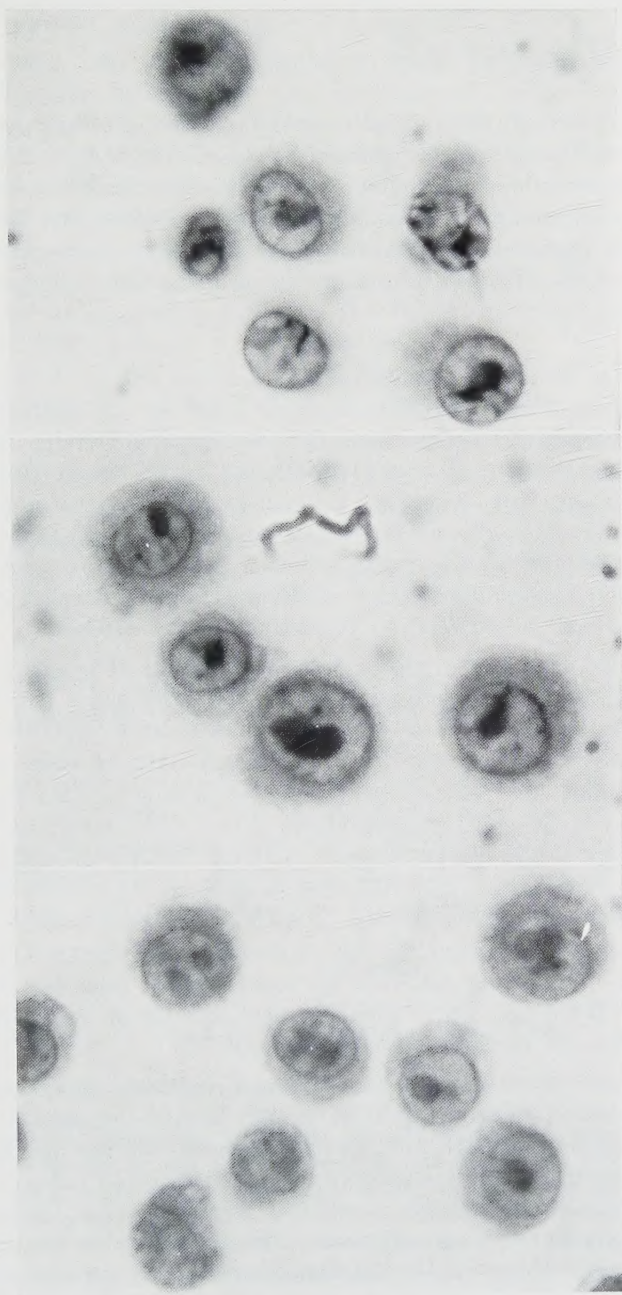


Abb. 6a—c. Asciteszellen mit Galloeyanin-Chromalaun gefärbt zur hervorsteckenden Darstellung von nucleinsäurehaltigen Zellbestandteilen. Vergrößerung etwa 1000fach. a Zellen direkt nach Entnahme aus der Bauchhöhle. b Kontrollzellen nach 40 min Inkubation. c Zellen nach 40 min Inkubation mit 1,5 µg Trenimon pro Milliliter Suspension. Es finden sich an den Zellen keine probeweisliche morphologische Veränderungen.

Bei der mikroskopischen Durchsicht nach Hämalaun-Eosin-Färbung bzw. Galloeyanin-Chromalaun-Färbung fanden wir bei den 30—60 min mit und ohne Cytostatica inkubierten Zellen keine für Cytostatica charakteristischen

Tabelle *Reimplantation von Asciteszellen, die unter den in Abb. 1—3 angegebenen Bedingungen 60 min inkubiert worden waren* (Beobachtungszeit 6 Wochen)

	Kontrollen	Trenimon	E 39 soluble	Mitomen
Zahl der beimpften Tiere	10	10	10	10
Davon mit Ascites gestorben . .	10	0	0	1

Veränderungen (vgl. Abb. 6). Öfters fanden sich zwar nach der Inkubation kleinere Vacuolen im Cytoplasma der Zelle; gelegentlich wurde auch eine verstärkt gezeichnete Kernmembran bei aufgehelltem Kern gefunden. Die Nucleolen frischer Asciteszellen waren rundlich bis oval, nach längerer Inkubation fanden sich vermehrt vielzipfelige Formen. Alle diese Veränderungen waren jedoch nicht für die Cytostatica charakteristisch, sie fanden sich auch bei Inkubation ohne Cytostaticum.

Diskussion

Wie wir zeigten, gibt es Bedingungen, unter denen sich in Ascites-Tumorzellen der Gehalt an RNS und DNS und damit auch der RNS/DNS-Quotient nicht verändern, obwohl die Zellen durch Einwirkung alkylierender Cytostatica vermehrungsunfähig wurden. Da der DPN-Gehalt unter diesen Bedingungen stark abnimmt, folgern wir, daß die cytostatische Wirkung der untersuchten Substanzen durch Senkung des DPN-Gehaltes zustande kommt. Damit im Einklang stehen an anderer Stelle mitgeteilte Versuche (MIELSCH et al. 1962), wonach DPN-Abnahme und Verlust der Vermehrungsfähigkeit völlig parallel und durch gleiche Konzentrationen alkylierender Cytostatica bewirkt werden.

Es bleibt zu diskutieren, wie unsere früheren Befunde (GRUNDMANN et al. 1960) über die Wirkung von Endoxan auf das Jensen-Sarkom der Ratte zu erklären sind. Wir hatten damals beobachtet, daß sich der RNS/DNS-Quotient vor dem Abfall des DPN-Gehaltes ändert. Wir können dazu folgendes anführen:

1. Endoxan nimmt eine Sonderstellung unter den alkylierenden Cytostatica ein. Wir finden im Vergleich zu anderen alkylierenden Cytostatica, wie Äthylenimin-Verbindungen, N-Lost-Verbindungen, N-Oxyd-Lost-Verbindungen, keine Alkylierung von Nicotinsäure und Nicotinsäureamid *in vitro* (DUNTZE et al. 1962), keinen Abfall des DPN-Gehaltes in Ascites-Tumorzellen (Abb. 5 dieser Arbeit) und daher keine Hemmung der Glykolyse von Ascites-Tumorzellen (GRIMBERG 1962). Man muß daher in Betracht ziehen, daß der Wirkungsmechanismus des Endoxan von demjenigen der anderen in der vorliegenden Arbeit untersuchten alkylierenden Cytostatica abweicht.

2. Prinzipiell kann man nur dann zur zeitlichen Aufeinanderfolge von Ereignissen in lebenden Zellen etwas aussagen, wenn man diese Ereignisse mit derselben Methodik an demselben Material mißt. Man darf nicht, wie wir dies in unserer früheren Arbeit über Endoxan (GRUNDMANN et al. 1960) getan haben, einerseits mit mikroskopischen und cytophotometrischen Methoden eine Größe messen (den DNS/RNS-Quotienten) und andererseits Gramm-Portionen makroskopisch auf DPN analysieren. Unsere in der Einleitung erwähnten orientierenden Versuche über die makroskopisch-chemische Analyse des DNS- und RNS-Gehaltes in Jensen-Sarkom haben gezeigt, daß dieses Material so uneinheitlich ist, daß eventuelle Effekte der Cytostatica nicht beobachtbar sind. Im Gegensatz dazu

wird bei der mikroskopisch-cytophotometrischen Untersuchung das Material vorgesichtet und durch diese Auswahl werden sehr frühzeitig Effekte beobachtbar, die bei der makroskopisch-chemischen Analyse durch das uneinheitliche Begleitmaterial verdeckt worden wären.

Wir halten daher die vorliegenden Versuche für beweiskräftiger als unsere früheren Versuche mit Endoxan am Jensen-Sarkom. So steht nichts mehr gegen die Ansicht, daß alkylierende Cytostatica tierische Tumoren durch Hemmung der Biosynthese des DPN heilen. Wir haben hierfür viele Argumente in Studien gesammelt, bei denen parallel nach Applikation der Cytostatica einerseits die Heilung und andererseits die Effekte auf den Zellstoffwechsel analysiert wurden (Zusammenfassung s. HOLZER 1961). Derartige Versuche, bei denen parallel Heilwirkung und chemischer Effekt untersucht wurden, fehlen unseres Wissens völlig in der umfangreichen Literatur über die Wirkung von alkylierenden Cytostatica auf Nucleinsäuren.

Zusammenfassung

Die alkylierenden Cytostatica E 39 soluble, Trenimon und Mitomen senken den DPN-Gehalt von Ascites-Tumorzellen und verhindern das Wiedergehen der Zellen bei der Transplantation. Der RNS- und DNS-Gehalt, sowie der RNS/DNS-Quotient, werden unter diesen Bedingungen nicht verändert. Wir betrachten diese Ergebnisse als weitere Stütze für die Ansicht, daß die primäre, die Tumorheilung bewirkende Aktion der alkylierenden Cytostatica in einer Hemmung der Biosynthese des DPN und nicht in einer Beeinflussung der Nucleinsäuren besteht.

The Action of Alkylating Cytostatic Agents on Ascites Tumor Cells: Changes in Content of DPN, Nucleic Acids and Cell Structure

Summary

The alkylating cytostatica soluble E 39, Trenimon and Mitomen lower the DPN concentration of the ascites tumor cells and prevent the viability of the cells after transplantation. The RNA:DNA ratio does not change under these conditions. These results are further evidence that alkylating cytostatica heal tumors by inhibiting the synthesis of DPN and not by acting on nucleic acids.

Literatur

- BARRENSCHEEN, H. K., u. A. PEHAM: Zur photometrischen Bestimmung der Nucleoside und Nucleotide auf Grund der Orcinreaktion. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **272**, 81 (1942).
- BEISENHERZ, G., H.-J. BOLTZE, TH. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDET u. G. PLEIDERER: Diphosphofructose-Aldolase, Phosphoglyceraldehyd-Dehydrogenase, Milchsäure-Dehydrogenase, Glycerophosphat-Dehydrogenase und Pyruvat-Kinase aus Kaninchenmuskel in einem Arbeitsgang. *Z. Naturforsch.* **8b**, 555 (1953).
- BURTON, K.: A study of the conditions and mechanisms of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* **62**, 315 (1956).
- DUNTZE, W., H. W. GOEDDE, S. FRANK u. H. HOLZER: Alkylierung von Nicotinsäureamid und Nicotinsäure durch Tetramin (1-Aziridino-2-hydroxy-buten-3) und andere carcino-statische Äthylenimin-Verbindungen. *Z. Krebsforsch.* **64**, 503 (1962).
- GRIMBERG, H.: Studien zur Hemmung der Glykolyse von Ascites-Tumorzellen durch carcino-statische Äthyleniminverbindungen und Wasserstoffperoxyd. Diss. Med. Fak. Univ. Freiburg i. Br. 1962.

- GRUNDMANN, E., H. KRÖGER u. H. HOLZER: Vergleichende histologische cytophotometrische und biochemische Untersuchungen über die Wirkung von Endoxan auf das Jensen-Sarkom der Ratte. *Klin. Wschr.* **38**, 546 (1960).
- HOLZER, H.: Wirkungsmechanismus der Zytostatica. *Dtsch. med. J.* **12**, 312 (1961).
- P. GLOGNER u. G. SEDLMAYER: Zum Mechanismus der Glykolysehemmung durch carcinostatisch wirkende Äthylenimin-Verbindungen. *Biochem. Z.* **330**, 59 (1958).
- HUDACK, E. D., and N. BAKER: Studies on Ehrlich ascites cell nuclei. *Exp. Cell Res.* **22**, 327 (1961).
- KRÖGER, H., u. H. HOLZER: Zum Wirkungsmechanismus von Äthylenimin-Verbindungen. *Extrait de Acta Union Int. contre le Cancer* **16**, 686 (1960).
- H. W. ROTTHAUWE, B. ULRICH u. H. HOLZER: Zum Einfluß von Carcinostatica auf den DPN-Stoffwechsel der Tumoren. I. Einbau von ^{14}C -Ribose und ^{14}C -Nicotinsäureamid in das DPN von Ascites-Zellen. *Biochem. Z.* **333**, 148 (1960).
- — — II. Nachweis von DPN-Bausteinen in Ascites-Zellen. *Biochem. Z.* **333**, 155 (1960).
- LAWLEY, P. D., and P. BROOKES: Mechanisms of action of alkylating agents. *A. R. Brit. Emp. Cancer Campgn* **38**, 3 (1960).
- MIELSCH, M., H. GRIMBERG, U. DOLD u. H. HOLZER: Einfluß von Nicotinsäureamid auf DPN-Gehalt, Glykolyse und Vermehrungsfähigkeit von Ascites-Tumorzellen nach Behandlung mit carcinostatischen Äthyleniminverbindungen. *Biochim. biophys. Acta (Amst.)* **62**, 519 (1962).
- SCHMIDT, G., and S. J. THANNHAUSER: A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, and phosphoproteins in animal tissues. *J. biol. Chem.* **161**, 83 (1945).
- SCHNEIDER, J. H., and V. R. POTTER: Nucleotid metabolism. VIII. Heterogenous labeling in ribonucleic acid of rat liver. *J. biol. Chem.* **233**, 154 (1958).
- SCHNEIDER, W. C.: Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. *J. biol. Chem.* **161**, 293 (1945).

Prof. Dr. HELMUT HOLZER, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität,
78 Freiburg i. Br.

Lebenslauf

Am 27. 7. 1939 wurde ich, Meino Mielsch, als erstes Kind des Dolmetschers Walther Mielsch und seiner Ehefrau Erika, geb. Klemm, in Baden-Baden geboren. Von 1945 bis 1949 besuchte ich in Baden-Baden die Grundschule und von 1949 bis 1958 das dortige humanistische Gymnasium Hohenbaden, wo ich im März 1958 die Reifeprüfung ablegte. Im Mai 1958 begann ich in Bonn mit dem Studium der Medizin und bestand dort im März 1959 die naturwissenschaftliche und im August 1960 die ärztliche Vorprüfung. Seit November 1960 bin ich an der Universität Freiburg im Breisgau immatrikuliert; seit dieser Zeit war ich mit den Versuchen zu der vorliegenden Dissertation beschäftigt, die in 16 Monaten durchgeführt wurden.

